

Kerusakan membrana basalis pada hiperplasi prostat benigna, *prostatic intraepithelial neoplasia* dan adenokarsinoma prostat. Kajian kontinuitas kolagen tipe IV membrana basalis.

Irianiwati, Ahmad Ghozali dan Haryadi

Bagian Patologi Anatomik, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

ABSTRACT

Irianiwati, Ahmad Ghozali, Harijadi - *The basal membrane destruction in benign prostatic hyperplasia, prostatic intraepithelial neoplasia, and prostatic adenocarcinoma. A study on basal membrane type IV collagens.*

Basal membrane (BM), a selective permeable membrane is mainly composed of type IV collagen. A tumor invasion, therefore, may only occur if this membrane is destroyed by an active process of tumor producing proteolytic enzymes. It has been found that prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) is a prostatic premalignant lesion. Although both benign prostate hyperplasia (BPH) and prostatic adenocarcinoma required an androgenic hormone for their growth, the correlation between the degree of destruction of basal membranes and BPH, PIN, and prostatic adenocarcinoma should be clarified. This can be studied by observing the continuity of periacinair BM. In order to understand the correlation among prostatic lesions, the BM continuity of 40 paraffin block specimens (15 BPH, 11 PIN, and 14 Prostatic adenocarcinomas) were studied. The BM of these specimens were stained immunohistochemically with MoAB anti human Type IV collagens. The periacinair BM continuity was scored 0-5. The Spearmans correlation test was used to analyze their possible relationship. The result shows that there is a significant correlation between the degree of destruction of basal membranes and BPH, PIN, and Prostatic adenocarcinomas ($r = 0.898$; $p < 0.05$). In conclusion, based on periacinair BM destruction, there is a positive correlation between the degree of destruction of basal membranes and BPH, PIN, and prostatic adenocarcinomas.

Key words : collagen type IV - prostatic adenocarcinoma - prostatic intrapithelial neoplasia - benign prostate hyperplasia - basal membrane

ABSTRAK

Irianiwati, Ahmad Ghozali, Harijadi - *Kerusakan membrana basalis pada hiperplasi prostat benigna, prostatic intraepithelial neoplasia dan adenokarsinoma prostat. Kajian kontinuitas kolagen tipe IV membrana basalis*

Membrana basalis (BM) terutama tersusun oleh kolagen tipe IV dan bersifat permeabel selektif, sehingga invasi tumor hanya akan terjadi bila kerusakan membrana tersebut akibat aktivitas enzim proteolitik yang dihasilkan oleh tumor. Diketahui bahwa *prostatic intraepithelial neoplasia* (PIN) merupakan lesi premaligna kelenjar prostat. Meskipun hiperplasi prostat benigna (BPH) maupun adenokarsinoma prostat membutuhkan hormon androgen untuk pertumbuhannya, tetapi hubungan antara derajat kerusakan membrana basalis dengan BPH, PIN, dan adenokarsinoma masih harus diteliti. Hubungan tersebut dapat diteliti dengan mengamati kontinuitas BM periasiner dari ketiga macam lesi tersebut. Untuk melihat hubungan antara derajat kerusakan membrana basalis dengan BPH, PIN, dan adenokarsinoma prostat, diteliti kontinuitas membrana basalis dari 40 sediaan blok parafin (15 BPH, 11 PIN, 14 adenokarsinoma). BM sediaan-sediaan tersebut dipulas dengan pulasan Imunohistokimiawi menggunakan MoAB anti kolagen IV manusia, dan kontinuitas BM dinilai dengan cara skoring 0-5. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis korelasi Spearman. Dari ke-40 sediaan tersebut, diperoleh korelasi positif tingkat kerusakan BM yang bermakna ($r = 0,898$; $p < 0,05$) dengan BPH, PIN dan adenokarsinoma prostat.

PENGANTAR

Membrana basalis merupakan membrana permeabel selektif yang terdiri atas kolagen tipe IV sebagai komponen utama, di samping ada juga komponen lain yaitu glikoprotein yang terdiri dari laminin dan fibronektin, serta proteoglikan¹. Pada tumor-tumor yang berasal dari sel-sel luminal, termasuk tumor prostat, protein-protein penyusun membrana basalis seperti laminin dan kolagen tipe IV, diduga dihasilkan oleh sel-sel mioepitelial atau sel-sel serupa yang terletak di sekeliling kelenjar benigna, meskipun jumlahnya menurun pada tumor invasif². Membrana basalis tidak dapat dilewati oleh sel tumor secara pasif, sehingga invasi sel tumor terjadi setelah sel tersebut secara aktif merusak membrana basalis dengan melarutkan kolagen tipe IV dari membrana tersebut³. Sel-sel tumor yang mampu menghasilkan enzim proteolitik terhadap kolagen tipe IV akan mampu melakukan invasi ke jaringan sekitarnya⁴.

Tumor prostat yang sering dijumpai adalah hiperplasi prostat benigna (BPH) yang jinak, *prostatic intraepithelial neoplasia* (PIN) yang dianggap sebagai lesi premaligna, dan adenokarsinoma prostat⁵. Pada karsinoma prostat telah diteliti adanya hubungan antara kerusakan membrana basalis dengan *grading* histologis⁶, baik melalui pengamatan laminin membrana basalis⁷ maupun melalui pengamatan kolagen tipe IV membrana tersebut⁸. Dari penelitian Bonkhoff *et al*⁹, ditemukan bahwa adanya membrana basalis tidak tergantung pada derajat diferensiasi maupun derajat keganasan. Anggapan sifat premaligna PIN ditegakkan berdasarkan kenyataan bahwa pada 82 % adenokarsinoma prostat dijumpai PIN derajat tinggi¹⁰, dan kebanyakan lokasi PIN pada prostat bagian perifer, yang juga merupakan lokasi terbanyak adenokarsinoma prostat⁵. Di sisi lain, meskipun BPH bukan merupakan lesi premaligna, tetapi berdasarkan fakta bahwa prevalensi BPH dan adenokarsinoma prostat semakin meningkat dengan bertambahnya umur, dan kedua lesi tersebut membutuhkan hormon androgen untuk pertumbuhannya¹⁰. Kemungkinan adanya hubungan antara BPH dengan adenokarsinoma prostat masih perlu dibuktikan.

Berdasarkan fakta-fakta yang menunjukkan bahwa keganasan suatu tumor, termasuk tumor

prostat, ditentukan oleh kemampuannya melakukan invasi dengan merusak membrana basalis, maka hubungan antara derajat kerusakan membrana basalis dengan BPH, PIN, dan adenokarsinoma prostat dapat diketahui dengan mengamati tingkat kerusakan membrana basalis dari masing-masing lesi prostat tersebut. Penelitian ini dirancang untuk melihat hubungan antara derajat kerusakan membrana basalis dengan PHB, PIN, dan adenokarsinoma prostat.

BAHAN DAN CARA

Empat puluh sediaan dikumpulkan dari blok parafin lesi prostat yang telah didiagnosis sebagai BPH, PIN, dan adenokarsinoma prostat. Masing-masing sediaan diperiksa ulang untuk konfirmasi diagnosisnya. Sediaan dengan diagnosis yang meragukan tidak dipilih dalam penelitian ini. Dalam diagnosis ditentukan juga derajat keganasannya.

Pemeriksaan histologik jaringan dilakukan dengan imunohistokimiawi menggunakan antibodi primer: *monoclonal Ab anti human collagen IV*, dengan racikan pewarnaan produksi DAKO: DAKO LSAB 2 KIT, AP, untuk melihat sebaran kolagen tipe IV.

Pembacaan dilakukan dengan mikroskop, untuk melihat derajat kerusakan membrana basalis 5 buah asini kelenjar, pembesaran 400 kali. Kontrol positif adalah timbulnya warna merah (fuchsin) pada pembuluh darah, sedangkan kontrol negatif berupa pewarnaan pada epitel kornea.

Hasil positif jika didapatkan pulasan berwarna merah (fuchsin) di sekeliling asinus kelenjar dan pembuluh darah. Derajat kerusakan ditentukan dengan skor sebagai berikut: skor 0 = membrana basalis kelima asini terpulas utuh, skor 1 = hanya 1 dari 5 asini tampak terputus, skor 2 = hanya 2 dari 5 asini tampak terputus, demikian seterusnya sehingga skor 5 adalah 5 dari 5 asini terpulas terputus sampai tidak dijumpai lagi membrana basalis.

Analisis statistik dilakukan dengan menghitung koefisien korelasi menurut Spearman. Di sini derajat kerusakan pada empat puluh sampel tersebut diurutkan mulai dari skor kerusakan terendah sampai skor kerusakan yang tertinggi. Sampel-sampel yang mempunyai skor sama, mempunyai peringkat yang sama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Dari 40 sediaan, didapatkan 15 (37,50%) BPH, 6 (15%) PIN derajat rendah, 5 (12,50%) PIN derajat tinggi, dan 14 (35%) adenokarsinoma prostat yang terdiri dari: 4 (10%) adenokarsinoma diferensiasi baik, 5 (12,50%) adenokarsinoma diferensiasi sedang, dan 5 (12,50%) adenokarsinoma diferensiasi jelek. Sediaan yang didapatkan berasal dari operasi (67,5%), *transurethral resection* (25%), dan biopsi (7,5%). Semua sediaan yang didapat dari *transurethral resection* diagnosis adalah BPH. Data-data lain dapat dilihat dalam TABEL berikut.

TABEL 1. - Mean umur pada berbagai lesi prostat

Lesi Prostat	N	Umur (th) (Mean ± SD)	Range
1. BPH	15	70,27 ± 6,16	57 - 80
2. PIN derajat rendah	6	66,67 ± 8,26	55 - 80
3. PIN derajat tinggi	5	63,00 ± 5,70	55 - 70
4. AdenoCa dif. baik	4	63,75 ± 6,24	57 - 70
5. AdenoCa dif. sedang	5	66,00 ± 6,86	57 - 75
6. AdenoCa dif. jelek	5	70,20 ± 5,07	63 - 75
Semua kasus	40	67,62 ± 6,67	55 - 80

Analisis varians: $F = 1,561$; $p = 0,20$

Pada TABEL 1 tidak dijumpai perbedaan yang bermakna antara mean umur pada berbagai jenis lesi prostat.

Pada TABEL 2, tampak ada hubungan yang bermakna antara jenis lesi prostat dengan skor kerusakan membrana basalis. Berdasarkan peringkat skor kerusakan semakin ke arah adenokarsinoma kerusakan membrana basalis semakin berat.

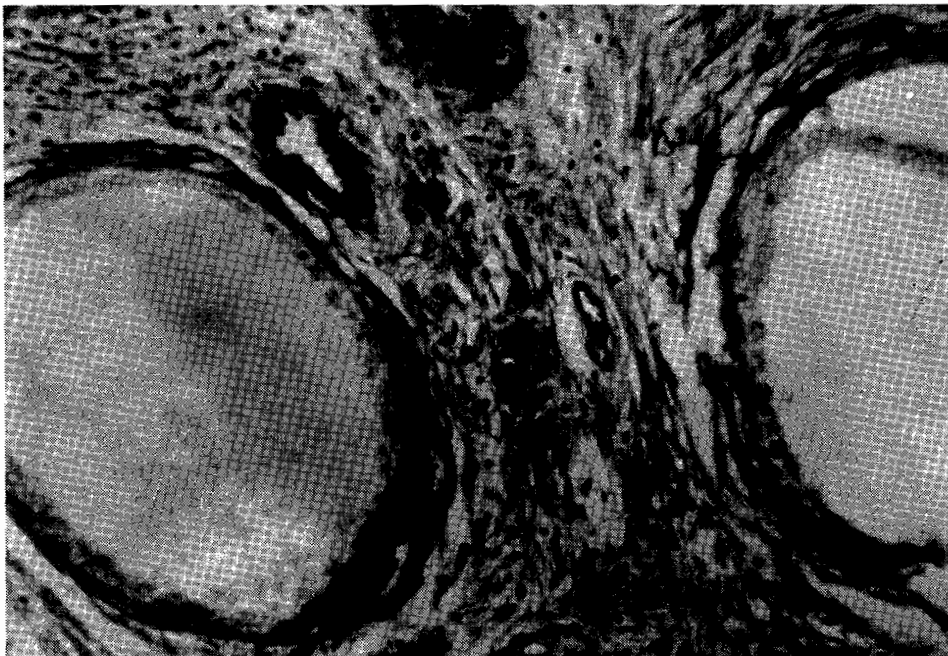
TABEL 2. - Hubungan jenis lesi prostat dengan kerusakan membrana basalis

Lesi Prostat	N	Umur (th) (Mean ± SD)	Range
1. HPB	15	0 - 2	7 - 21,5
2. PIN rendah	6	0 - 3	7 - 25,5
3. PIN tinggi	5	1 - 3	16,5 - 25,5
4. AdenoCa dif. baik	4	5	33,5
5. AdenoCa dif. sedang	5	5	33,5
6. AdenoCa dif. jelek	5	5	33,5

Spearman: $r = 0,898$; $P < 0,05$

Pembahasan.

Pada TABEL 1 tampak bahwa perbedaan mean umur pada berbagai lesi prostat yang diteliti tidak menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Dari temuan ini dapat dianggap bahwa faktor umur dari sampel yang diteliti



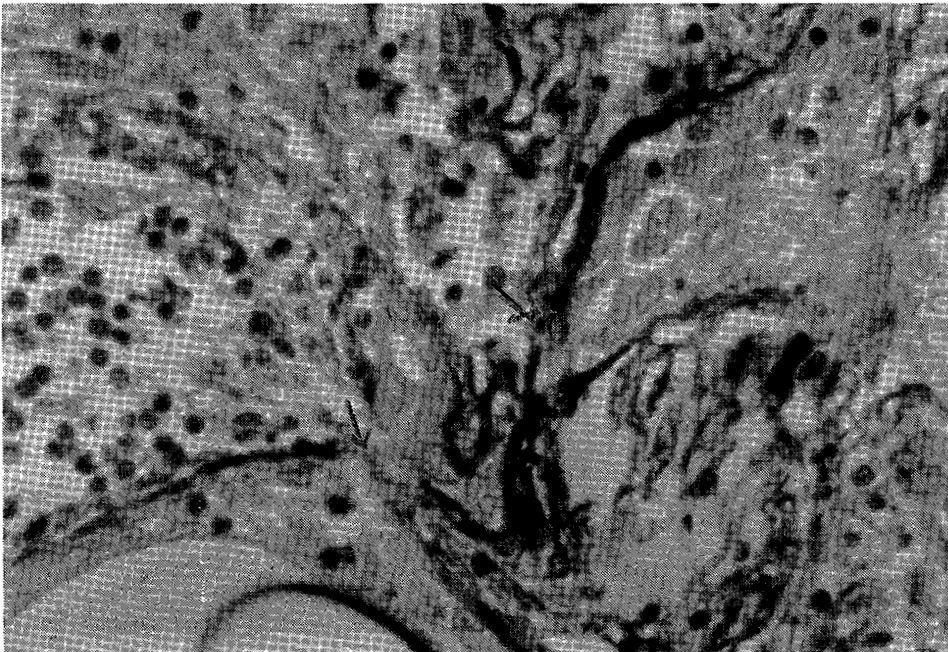
GAMBAR 1. - Kolagen tipe IV di tepi duktus dan asinus kelenjar pada hiperplasi prostat benigna terpulas utuh. Pengecatan imunohistokimiawi dengan *MoAb anti human collagen type IV*.

dapat diabaikan, sehingga analisis kerusakan membrana basalis berbagai lesi prostat dianggap bebas dari bias faktor umur. Pada TABEL 1 juga tampak bahwa simpangan umur BPH tidak berbeda jauh dengan simpangan umur pada populasi, seperti yang telah dilaporkan sebelumnya yaitu umur BPH pada populasi yang berkisar 50-80 tahun¹¹. Berdasarkan beberapa penelitian lain tampaknya insidensi dan derajat PIN makin meningkat dengan bertambahnya umur^{12,13}. Penelitian pada biopsi ultrasonografi prostat menunjukkan bahwa mean umur penderita PIN adalah 65 tahun, lebih rendah dari pada mean umur karsinoma prostat yaitu 70 tahun¹⁴. Dalam penelitian ini, temuan mean umur PIN dan adenokarsinoma tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian tersebut.

Pada pemulasan lesi BPH hasil positif tampak pada asinus dan duktus kelenjar, dinding pembuluh darah, serabut otot polos, dan serabut saraf, sebagai serabut berwarna merah fuchsin (GAMBAR 1). Hasil yang sama juga didapatkan oleh Fusch *et al.*,⁶ Sinha *et al.*,⁷ dan Bonkhoff *et al.*,⁹ karena jaringan tersebut mengandung kolagen tipe IV. Beberapa kasus BPH menunjukkan adanya kerusakan membrana basalis meskipun dalam tahap yang ringan (skor 1 dan 2). Kerusakan ini

mungkin disebabkan oleh inflamasi, mengingat proses inflamasi dapat merusak membrana basalis, karena dilepaskannya enzim leukosit polimorfonuklear elastase yang bersifat proteolitik¹⁵. Namun pada karsinoma serviks dan vulva, inflamasi ternyata tidak berpengaruh pada kerusakan membrana basalis.

Pada PIN tampak bahwa skor kerusakan membrana basalis meningkat dengan makin meningkatnya derajat PIN (TABEL 2) (GAMBAR 2), namun pada beberapa sampel masih dijumpai kelenjar dengan membrana basalis utuh (Skor 0). Temuan ini sesuai dengan pendapat Mostofi *et al.*,⁵ dan Schultz *et al.*,¹⁶ yang menyatakan bahwa pada PIN kerusakan membrana basalis meningkat dengan makin meningkatnya derajat PIN. Histologis PIN ditandai dengan proliferasi sel-sel kelenjar dalam asini, dengan inti anaplasia, namun tidak didapatkan pertumbuhan invasi. Lapisan sel basal dan membrana basalis di sekeliling asini kelenjar dapat utuh atau rusak, namun hubungan antara umur dengan derajat kerusakan membrana basalis dan lapisan sel basal tidak jelas. Pola pertumbuhan PIN menembus saluran kelenjar mirip dengan pola pertumbuhan karsinoma prostat, yaitu pertama dengan penggantian sel epitel kelenjar normal; dengan sel cadangan pada lapis-



GAMBAR 2. - Kolagen tipe IV di tepi asinus kelenjar pada *Prostatic intraepithelial neoplasia* terpusas tidak utuh

an sel basal, kedua dengan cara permiasi sel-sel tumor secara pagetoid, ketiga dengan cara invasi melalui dinding duktus dengan merusakkan lapisan sel basal dan membrana basalis¹⁷. Oleh karena itu proses terjadinya kerusakan membrana basalis juga serupa, meskipun tingkat kerusakannya berbeda.

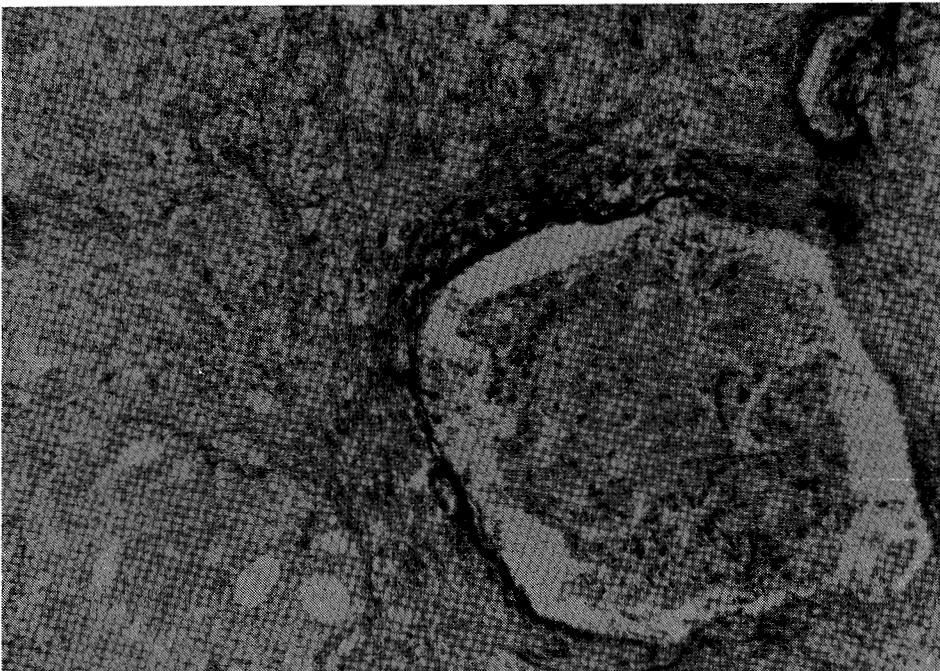
Pada penelitian ini semua adenokarsinoma, baik dengan diferensiasi baik, sedang atau jelek, membrana basalisnya menunjukkan skor kerusakan tertinggi (skor 5). Pada adenokarsinoma diferensiasi baik, masih dijumpai sedikit kolagen tipe IV di sekeliling sel tumor, meskipun intensitasnya lemah. Pada adenokarsinoma diferensiasi sedang dan jelek sama sekali tidak ditemukan kolagen tipe IV. Pada stroma di sekitar tumor, kolagen tipe IV hanya didapatkan pada dinding pembuluh darah dan tidak terpulask utuh (GAMBAR 3). Hasil ini sesuai dengan temuan Bonkhoff *et al.*,⁹ yang menunjukkan kerusakan membrana basalis tidak tergantung pada derajat diferensiasi adenokarsinoma prostat. Namun hasil tersebut berbeda dengan temuan Fuchs *et al.*,⁶ dan Sinha *et al.*,⁸ yang menemukan bahwa ada hubungan antara derajat diferensiasi karsinoma prostat dengan meningkatnya kerusakan membrana basalis. Perbedaan-perbedaan hasil pene-

litian tersebut dapat terjadi karena perbedaan *processing*, *pretreatment* jaringan maupun perbedaan skoring kerusakan membrana basalis. Pada penelitian ini, fiksasi jaringan dengan formalin 10%, dan *pretreatment* dilakukan dengan trypsin 0,025%.

Kolagen tipe IV sebagai komponen terbesar membrana basalis dapat dirusak oleh enzim tertentu yaitu kolagenase tipe IV, cathepsin B, dan *plasminogen activator*. Penelitian yang telah dilakukan pada prostat adalah dengan kolagenase tipe IV, dan ternyata ekspresi kolagenase tipe IV pada PIN lebih rendah daripada adenokarsinoma prostat¹⁸. Enzim-enzim tersebut mungkin dihasilkan oleh sel tumor atau oleh sel hospes. Dengan demikian, hubungan antara BPH, PIN, dan adenokarsinoma prostat dapat juga diamati dengan mengamati ekspresi kolagenase IV antara ketiga lesi prostat tersebut.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis kolagen tipe IV membrana basalis dari berbagai lesi prostat, dapat disimpulkan bahwa ada korelasi positif antara derajat kerusakan membrana basalis dengan BPH, PIN, dan adenokarsinoma prostat.



GAMBAR 3. - Pada adenokarsinoma prostat diferensiasi jelek tidak dijumpai kolagen tipe IV di sekeliling sel tumor. Kolagen tipe IV pada dinding pembuluh darah tampak terpulask utuh.

KEPUSTAKAAN

1. Burgeson RE. Basement membranes, In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff KJ, Freedberg TH, Austen KF, editors. *Dermatology in General Medicine*, p.288. New York: McGraw-Hill, 1989.
2. Bursky SH, Siegal GP, Jannotta F, Liotta LA. Loss of basement membrane component by invasive tumors but not by their benign counterparts. *Lab: invest* 1983, 49: 140-47.
3. Liotta LA. Dan Stetler-Stevenson WG. Tumor invasion and metastasis: An imbalance of positive and negative regulation. *Cancer Research*, 1991; 51 (Suppl): 5054-9.
4. De La Torre M, Haggman M, Brandstedt S, Busch C. Prostatic intraepithelial neoplasia in total prostatectomy specimens: distribution, volumes and DNA ploidy, *British J Urol*, 1993; 72:207-262
5. Mostofi FK, Davis CJ, Sesterhenn IA. Pathology of carcinoma of the prostate, *Cancer* 1992; 70 (Suppl): 235-301.
6. Fuchs ME, Brawer MK, Rennels MA, Nagle RB. The relationship of basement membrane to histologic grade of human prostatic cancer, *Mod-Pathol*, 1984; 2: 105-11.
7. Sinha AA, Gleason DF, Wilson MJ, Nagle RB, Furcht CT, Palm SL, et al. Immunohistochemical localization of laminin in the basement membranes of normal, hyperplastic, and neoplastic human prostate, *Prostate*, 1989; 15: 299-313.
8. Sinha AA, Gleason DF, Deleon OF, Wilson MJ, Limas C, Reddy PK, et al. Localization of type IV collagen in the basement membrane of epithelial and stromal elements (smooth muscle, nerves, vessels), in normal, hyperplastic, and neoplastic (primary and metastatic) prostate. *Prostate*, 1991; 18:93-104.
9. Bonkhoff H, Wernert N, Dhom G, Reberger K. Distribution of basement membranes in primary and metastatic carcinomas of the prostate. *Hum. Pathol*, 1992; 23:934-9.
10. Bostwick DG, Amin MB, Dundore D, Marsh W, Schultz DS. Architectural patterns of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia, *Hum-Pathol*, 1992; 24:298-310.
11. Irianiwati dan Soeripto. *Hiperplasi prostat benigna di Yogyakarta*, 1996 (In Press).
12. Kovi J, Mostofi FK, Heshmat MY, Enterline JP. Large acinar atypical hyperplasia and carcinoma of the prostate, *Cancer*, 1988; 61:555-61.
13. Humphrey PA, Frazier HA, Paulson DF, Vollmer RT. Extent of severe dysplasia in the prostate is inversely related to pathologic stage. *Mod. Pathol*, 1992; 1992; 5:5.
14. Lee F, Torp-Pederson ST, Carroll JT, Siders DB, Christensen-Day C, Mitchell AE. Use of transrectal ultrasound and prostate-specific antigen in diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia, *Urology*. 1989 (Suppl); 2.
15. Sodeman dan Sodeman. *Pathologic physiology mechanisms of disease*, 7th (ed), Philadelphia: WB Saunders Company, 1985.
16. Schult DS, Amin MB, Zatho RJ. Type IV collagen basement membrane component of prostatic intraepithelial neoplasia and associated carcinoma, *Mod-Pathol*. 1992; 5:59A (abstr).
7. Bostwick DG. Dan Brawer MK. Prostatic intraepithelial neoplasia: the most likely precursor of prostate cancer, *Cancer*, 1987; 59:788-94.
18. Bostwick DG. High grade prostatic intra-epithelial neoplasia: the most likely precursor of prostate cancer *Cancer*, 1994; 75 (Suppl): 1823-36.